

CENTRE DE COOPERATION INTERNATIONALE EN RECHERCHE AGRONOMIQUE
POUR LE DEVELOPPEMENT

C I R A D

DEPARTEMENT "FRUITIERS" IRFA

RAPPORT DE MISSION EN COLOMBIE

30 Septembre - 14 Octobre 1990

APPUI AU PROGRAMME DE COOPERATION

FEDERACAFE - ICA - CIRAD/IRFA

J . L . SARAH

Service Entomologie - Nématologie

CIRAD/IRFA - B.P. 5035 - 34032 MONTPELLIER CEDEX

CENTRE DE COOPERATION INTERNATIONALE EN RECHERCHE AGRONOMIQUE
POUR LE DEVELOPPEMENT

C I R A D

DEPARTEMENT "FRUITIERS" IRFA

RAPPORT DE MISSION EN COLOMBIE

30 Septembre - 14 Octobre 1990

APPUI AU PROGRAMME DE COOPERATION

FEDERACAFE - ICA - CIRAD/IRFA

J . L . SARAH

Service Entomologie - Nématologie

CIRAD/IRFA - B.P. 5035 - 34032 MONTPELLIER CEDEX

SOMMAIRE

<u>REMERCIEMENTS</u>	1
<u>DEROULEMENT DE LA MISSION</u>	2
1) <u>INTRODUCTION</u>	4
2) <u>NEMATOLOGIE</u>	5
2.1) <u>TECHNIQUES DE LABORATOIRE</u>	5
2.1.1) EXTRACTIONS	5
2.1.2) COMPTAGES	8
2.2) <u>PREMIERS RESULTATS DE L'ENQUETE</u>	8
2.2.1) ESPECES PRESENTES	8
2.2.2) NIVEAUX DE POPULATION	9
2.3) <u>TRAITEMENT DES DONNEES DE L'ENQUETE</u>	10
2.3.1) REMARQUES GENERALES	10
2.3.2) VARIABLES EXPLICATIVES	11
2.3.2.1) CLIMAT	11
2.3.2.2) SOL	12
2.3.2.3) FACTEURS CULTURAUX	12
2.3.3) TRANSFORMATION DES DONNEES NEMATODES	12
2.4) <u>ORIENTATIONS</u>	13
2.4.1) <i>HELICOTYLENCHUS</i>	13
2.4.2) <i>MELOIDOGYNE</i>	13
2.4.3) <i>PRATYLENCHUS</i>	14
2.4.4) <i>RADOPHOLUS SIMILIS</i>	14
2.4.5) ETUDE DES RELATIONS PLANTE-NEMATODES	15
2.4.6) MESURES DE LUTTE	15
2.4.7) UTILISATION DE MATERIEL VEGETAL DE PLANTATION SAIN	16
3) <u>ENTOMOLOGIE</u>	17
3.1) <u>EXPOSE DES PROBLEMES</u>	17
3.2) <u>METHODES DE LUTTE</u>	17
4) <u>CONCLUSIONS</u>	18
<u>A N N E X E 1</u>	20
<u>A N N E X E 2</u>	21

REMERCIEMENTS

Que FEDERACAFE et CENICAFE, et notamment son Directeur, le Dr Cadena Gomez, trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude pour l'organisation de ce séjour et pour les conditions de leur accueil.

Je tiens également à remercier l'ensemble du personnel du Centre Pedro Uribe pour leur cordialité et leur chaleur à mon égard. Je remercie tout particulièrement l'équipe de l'enquête diagnostic, Selma, 'Pacho' et Omar pour leur disponibilité et leur grande conscience professionnelle liée à une humeur toujours égale. Tous ont eu à coeur la réussite de cette mission et de me laisser une image souriante de leur pays. Ils ont largement réussi.

M Lescot a multiplié les efforts pour la réussite de cette mission malgré ses très nombreuses obligations, qu'il trouve ici l'expression de mes remerciements les plus chaleureux. Enfin, je suis particulièrement reconnaissant à M et Mme Lescot pour la qualité de leur accueil malgré des circonstances difficiles.

DEROULEMENT DE LA MISSION

Dimanche 30 septembre ; Départ pour la Colombie via Paris.

Lundi 1er octobre ; Arrivée à Manizales via Bogotá ; Prise de contact (M T. Lescot) avec la station CENICAFE de Chinchiná (Centro Pedro Uribe Mejía), visite de la station.

Mardi 2 octobre ; Laboratoire de nématologie (Mlle Selma Asprilla), examen des techniques employées, discussion méthodologique, premier examen des résultats de l'enquête.

Mercredi 3 octobre ; Visite au champ avec prélèvements d'échantillons, stations de CENICAFE (Naranjal, Romelia et Chinchiná).

Jeudi 4 octobre ; examen et traitement des données nématologiques de l'enquête ; entretien avec le Directeur de CENICAFE (Dr G. Cadena Gomez) ; visite au champ, démonstration de la méthode d'enquête sur une parcelle du municipio La Palestina.

Vendredi 5 octobre ; examen et traitement des données de l'enquête ; visite au champ sur une parcelle expérimentale (el Jazmín); extractions comparatives au laboratoire.

Samedi 6 octobre ; Départ pour Calí (M T. Lescot) ; visite de parcelles dans la région ouest du Valle (La Tragedia et Restrepo) en compagnie d'une délégation de l'INIBAP (MM R. Jaramillo et H. Tézenas du Montcel) et d'une de l'ICA conduite par le Dr S. Belalcazar ; à Calí prise de contact avec MM C. Vuillaume et A. Pinon.

Dimanche 7 octobre ; Discussion sur le programme de M Vuillaume ; Visite de champs d'ananas (M Pinon) guidée par un planteur (M Jaramillo).

Lundi 8 octobre ; Visite de l'ICA à Palmira, rencontre avec le Directeur du centre en compagnie de la délégation de l'INIBAP, visite des laboratoires de nématologie et d'entomologie, discussion avec M J. Palido sur les problèmes de la lutte contre *C. sordidus*, visite de la collection de bananiers ; retour sur Manizales en passant par le Quindío avec visite d'une parcelle à 10 km au sud d'Armenia.

Mardi 9 octobre ; examen et traitement des données nématologiques de l'enquête ; préparation des interventions prévues pour la réunion de l'ASIAR à Pereira.

Mercredi 10 octobre ; examen et traitement des données nématologiques de l'enquête ; Réunion de l'ASIAR à Pereira.

Jeudi 11 octobre ; examen et traitement des données nématologiques de l'enquête, bilan (partiel) et perspectives (orientation et hiérarchisation des études futures) ; entretien avec le Dr Cadena pour lui exposer le bilan de cette mission.

Vendredi 12 octobre ; exposé sur les problèmes généraux de ravageurs du plantain en relation avec ce qui a été observé en Colombie (salle de conférence de la station de Chinchiná) ; Entretien avec Mme Duchemin (MAE) et M Vichet (Ambassade) ; dernier bilan avec Mlle Asprilla et M Lescot.

Samedi 13 octobre ; retour à Bogotá, départ pour Paris.

Dimanche 14 octobre ; arrivée à Montpellier via Paris.

1) INTRODUCTION

Cette mission entrait dans le cadre de l'appui technique au travail d'enquête diagnostic menée sur plantain dans la zone de production caféière de Colombie (Départements du Quindío, de Risaralda et de Caldas). Il s'agit d'un programme faisant partie du projet de coopération FEDERACAFE - ICA - CIRAD/IRFA, pour lequel M Lescot a été affecté dans les structures de CENICAFE (station Pedro Uribe Mejía de Chinchiná).

On ne reviendra pas sur le détail et les conditions de cette enquête. On se référera à ce sujet au rapport de M Delvaux.

Il s'agissait ici d'assurer l'appui technique sur la partie ravageurs et plus particulièrement le volet nématologie. Les objectifs étaient les suivants:

- > S'assurer que les techniques utilisées (au champ comme au laboratoire) étaient appliquées dans des conditions correctes, permettant une bonne évaluation des problèmes posés par les ravageurs, et proposer des améliorations éventuelles ;

- > Etudier avec la personne responsable les résultats obtenus afin de donner des indications sur l'analyse (statistique) et l'interprétation (biologique) des données ;

- > Essayer de tirer de premières conclusions sur l'importance des problèmes et sur les mesures à prendre ou les études complémentaires à entreprendre dans l'avenir.

La partie nématologie a été confiée à Mlle Selma Asprilla qui effectue ce travail dans le cadre de son diplôme d'Agronomie (Université de Bogotá). En quinze jours il n'était pas possible de tout analyser en profondeur, et ce n'était pas non plus le but. On s'est attaché à enseigner à Mlle Asprilla quelques principes fondamentaux sur la façon d'aborder les problèmes nématologiques (discipline qu'elle découvre) et l'analyse des résultats (en favorisant le raisonnement logique au détriment de l'application aveugle d'outils statistiques parfois inadéquats).

La partie de visites aux champs n'a pas été oubliée mais elle a été réduite au strict minimum pour favoriser le travail au laboratoire et l'approche analytique.

Enfin on a profité d'une mission de l'INIBAP (Dr Jaramillo et Tézenas du Montcel) lors du week-end pour visiter des champs dans le département du Valle del Cauca avec une délégation de l'ICA conduite par le Dr Belalcazar, prendre contact avec l'ICA à Palmira et rencontrer nos collègues de l'IRFA (MM Pinon et Vuillaume) travaillant sur d'autres plantes fruitières (ananas, citrus, papaye, grenadille...), dans la zone de Cali.

2) NEMATOLOGIE

2.1) TECHNIQUES DE LABORATOIRE

A la suite de l'avalanche dramatique du Nevado del Ruiz en 1985 une grande partie des installations avait été détruite. La reconstruction se poursuit avec en projet un véritable laboratoire de nématologie. En attendant, il n'y a pas vraiment d'unité spécialisée sur la station.

La "cuisine" est relativement exiguë mais il est possible d'y travailler efficacement. Les opérations d'extraction sont réalisées correctement par Mlle Asprilla et des études comparatives ont montré que les résultats obtenus jusqu'à présent pouvaient être considérés comme fiables.

Les améliorations matérielles et techniques proposées, ne devraient donc pas apporter de gains réellement significatifs en "performance" pure sur le nombre de nématodes extraits. Elles visent plutôt à améliorer le "confort" du travail, donc à limiter les risques d'accident, et aussi à harmoniser les techniques avec celles utilisées à l'IRFA de façon à rendre plus faciles les comparaisons quantitatives.

2.1.1) EXTRACTIONS

La méthode employée est celle de la centrifugation-flottation, qui est généralement la plus efficace et la plus rapide pour l'extraction des endoparasites profonds (*Radopholus*, *Pratylenchus*). Elle permet de connaître l'état de la population ou du peuplement au moment de l'extraction. Elle est en revanche très exigeante en manipulations.

Elle comprend trois étapes essentielles: A) l'extraction proprement dite, B) le tamisage effectuant un premier tri entre nématodes et particules, C) la centrifugation-flottation proprement dite permettant de séparer complètement les nématodes de tout le reste.

A) Pour l'extraction à partir des racines on effectue un broyage au mixer à partir d'un échantillon de 50 grammes. La préparation de cet échantillon est très importante de manière à obtenir une partie aliquote.

On suivra les recommandations suivantes:

> découpage des racines en tronçons très petits (1 cm maxi) de façon à pallier la distribution très fortement aggrégative des nématodes dans les racines, lors du prélèvement de la partie aliquote,

> mélange soigné de ces tronçons, soit par la méthode des quatre quarts (utilisée en pédologie pour les mélanges de sol) soit dans une cuvette d'eau (voir annexe 1 pour les détails techniques).

Pour le broyage, les lames du mixer doivent être bien affûtées (vérifier régulièrement) pour permettre une dilacération rapide et complète des tissus. Les risques de perte de nématodes, coupés par les lames, existent mais sont très faibles du fait de leur petite taille. Ces risques ne sont pas diminués par des lames émoussées puisque le temps de dilacération doit, dans ce cas, être augmenté.

Pour le sol, l'échantillon (250 à 500 grammes) est dispersé dans un seau d'eau additionnée d'un dispersant (Hexamétaphosphate de sodium par exemple, utilisé en pédologie), d'autant plus nécessaire que le sol est plus argileux.

B) Le tamisage permet une séparation grossière entre, d'une part, les particules végétales ou minérales les plus grosses et les plus fines, et, d'autre part, les nématodes et les particules de taille identique.

L'ouverture des mailles est un problème important, puisqu'il s'agit de trouver un optimum entre la récupération des nématodes, nécessitant les mailles les plus fines possibles, et le colmatage par les particules diverses, qu'on réduit en augmentant la taille des mailles.

Pour la majorité des échantillons de l'enquête les extractions ont été faites avec une série de tamis aux normes américaines, dont les deux plus fins possédaient une ouverture de maille de 90 μ et 38 μ . Des tamis aux normes françaises ont été achetés (250 μ , 80 μ , 50 μ et 32 μ). Pour se rapprocher des conditions antérieures les tamis de 250 μ , 80 μ et 32 μ sont actuellement utilisés. Généralement pour l'extraction à partir de racines il n'y a pas de problèmes graves de colmatage, et on peut donc utiliser des tamis à mailles plus fines, plus efficaces (théoriquement). En Côte d'Ivoire on utilise une série 250 μ -32 μ -25 μ et parfois 250 μ -25 μ -25 μ . Pour l'avenir (l'après-enquête) ce type de série devrait être retenu. Il y a également lieu de prévoir des tamis de rechange en cas d'accident (les toiles les plus fines sont très fragiles). A noter également que le prix augmente exponentiellement avec la réduction de la taille des mailles: 50 μ , 400FF ; 32 μ , 650 FF ; 25 μ , 1100 FF ; 20 μ 2300 FF.

Pour les extractions de sol les problèmes de colmatage sont très aigus, d'autant plus que les sols sont plus argileux. De ce fait il est nécessaire d'avoir une colonne de tamis dont la réduction des mailles est progressive, et avec un dernier tamis à mailles pas trop fines (exceptionnellement 32 μ - sols sableux -, mais le plus souvent 40 μ , voire 50 μ). D'autre part, pour des raisons pratiques évidentes, il est recommandé de ne pas utiliser plus de cinq tamis pour la colonne. Une bonne colonne standard comprend la série suivante (ordre de grandeur): 200 ou 250 μ - 125 μ - 80 μ - 50 ou 63 μ - 40 ou 50 μ . Le passage de l'eau doit être très lent et il convient de vérifier en permanence le colmatage éventuel pouvant entraîner des pertes par débordement.

Le débit de l'eau et le temps de tamisage sont également très importants. Le débit doit être suffisamment fort pour entraîner les nématodes, sans provoquer de projections (synonymes de pertes).

On réglera le débit à la limite inférieure de ces risques de projections. Pour ce qui est du temps il est une manière intéressante de l'évaluer sans avoir les yeux fixés sur un chronomètre. Il s'agit de mettre une cuvette ou un seau sous la colonne de tamis, et quand l'eau atteint un certain niveau (à évaluer, en général 5 à 10 litres, cela dépend des tamis) le tamisage est terminé (cette méthode permet accessoirement de vérifier le nombre de nématodes ayant passé la barrière de la colonne en récupérant l'eau de la cuvette). Cette solution n'est pas forcément praticable partout, notamment ici où les extractions sont faites dans un évier. Dans ce cas le contrôle du temps peut être largement facilité par l'utilisation d'un chronomètre de pailleasse géant (cadran de 20-25 cm) que l'on peut surveiller "du coin de l'oeil".

C) La centrifugation-flottation permet de séparer les nématodes des particules restantes afin de faciliter (donc de rendre plus fiable) la phase de comptage. On peut donc partir d'échantillons plus grands (50 grammes au lieu de 25 ou moins) et de simplifier la phase de tamisage par réduction du nombre de tamis. La centrifugation est donc une amélioration évidente par rapport au simple tamisage mais elle ajoute des opérations supplémentaires qui sont autant de possibilités d'erreurs.

La récupération des refus des tamis inférieurs est correctement réalisée, mais le recours à un entonnoir posé au dessus des godets permettrait d'effectuer cette opération avec plus de sécurité. La taille des godets de la centrifugeuse est très limitée (250 ml). Il est possible de travailler avec, mais cela nécessite deux godets par échantillon, et on ne peut alors traiter que deux échantillons par centrifugation. Des godets d'une contenance de 500 ml existent sur un modèle de centrifugeuse française de marque JOUAN. De tels godets permettraient une récupération plus confortable et la possibilité de traiter quatre échantillons à la fois.

La remise en suspension du kaolin pour la deuxième centrifugation en milieu hypertonique est effectuée à l'aide d'un mini barreau magnétique. Cette solution est ingénieuse mais un peu fastidieuse. Une remise en suspension grossière préalable avec une spatule ou une petite cuillère permet de raccourcir notablement le temps de remise en suspension.

Le milieu hypertonique utilisé est une solution de sucre, matériau peu onéreux et facilement disponible sur place. Il présente l'inconvénient d'être un milieu favorable au développement de germes et donc de ne pouvoir être conservé longtemps. La conservation est prolongée au réfrigérateur, mais à cette température, la densité du milieu est notablement plus forte qu'à température ambiante, et il est nécessaire de le sortir suffisamment à l'avance ou de le réchauffer.

Le sulfate de magnésium, permet d'éliminer ces inconvénients car le produit peut se conserver très longtemps à température ambiante et être recyclé après filtration (sur laine de verre par exemple). Le produit revient plus cher mais cela est compensé par le recyclage possible (on peut aussi utiliser une formulation engrais).

Quel que soit le milieu utilisé, la densité doit être maintenue entre 1,15 et 1,18 (schématiquement, en deçà les nématodes coulent, au delà ils ne supportent pas la pression osmotique et les particules se mettent à flotter également). Le recours à un densimètre est obligatoire pour vérifier ce paramètre. Il est généralement donné des poids de sucre ou de sulfate pour un certain volume d'eau pour obtenir la bonne densité. Malheureusement ces quantités sont des poids secs, et l'on a affaire à des matériaux particulièrement hygroscopiques. Dans les conditions du labo, où il règne une certaine humidité, il est impossible de connaître exactement le poids sec, à moins de passer le produit au four. On a plus vite et plus sûrement fait de contrôler la concentration au densimètre.

2.1.2) COMPTAGES

La récupération à partir de la toile de 5 μ est faite dans des éprouvettes de 25 ml. Généralement on utilise plutôt 100 ou 200 ml. Certes la quantité relativement faible (en général) des populations permet cette concentration (25 ml) mais, encore une fois, la récupération est plus confortable dans des volumes plus grands, et la dilution peut être ajustée après décantation.

On a profité de cette mission pour apporter des lames de comptages. Celles-ci présentent l'inconvénient d'être graduées millimétriquement ce qui rend très fastidieux l'opération. Il est vivement conseillé de faire une marque au feutre indélébile toutes les deux graduations afin de pouvoir compter quatre carrés à la fois sans perdre ses repères.

2.2) PREMIERS RESULTATS DE L'ENQUETE

2.2.1) ESPECES PRESENTES

Les genres les plus répandus sont *Helicotylenchus* et *Meloidogyne*. Le premier est présent dans près de 100 % des échantillons (une seule absence sur 135 sites - accident ? -). Le second est détecté dans plus de 80 % des sites. Il est intéressant de comparer ces résultats avec ceux de Côte d'Ivoire, où ces deux genres étaient largement les plus répandus. Les espèces n'ont pas été identifiées. Des échantillons ont été envoyés en Angleterre (CAB). D'après les photos faites par Mlle Asprilla et les observations de quelques échantillons, *H. multicinctus* semble présent (espèce déjà signalée dans les zones d'Uraba - bananier - de la Vallée du Cauca et département du Quindío - plantain -), mais avec au moins une autre (*H. dihystra* et *H. erithrynae* ont déjà été signalés). Quant au genre *Meloidogyne*, les espèces *M. incognita* et *M. javanica* ont déjà été signalées sur plantains dans la Vallée du Cauca et dans le département du Quindío. Ces genres sont indigènes et adaptés ou tolérants à des conditions très diverses car aucune relation claire ne ressort avec les variables de l'environnement. Cette caractéristique peut également être liée à la présence de plusieurs espèces à preferences différents qui n'ont pu être séparées lors des comptages.

Le genre *Pratylenchus* est présent dans environ 50 % des échantillons. D'après ce que l'on a vu, il s'agit vraisemblablement de *P. coffeae*, déjà identifié sur plantain (Vallée du Cauca et département de Quindío) et sur café. Toutefois, il n'est pas évident, on semble même avoir quelques évidences du contraire par ailleurs, que le *P. coffeae* présent sur café attaque le plantain et réciproquement. Ceci est à vérifier. Une première analyse de sa distribution semble indiquer une relation (floue) avec l'altitude (donc avec la température), avec une plus grande abondance aux altitudes les plus faibles.

Radopholus similis a également été détecté mais sur seulement 20 % des sites. Ce ravageur non indigène n'a pu être introduit que par des souches ou rejets infestés introduits dans la zone. On parle beaucoup du rôle qu'aurait pu jouer la variété 'Domenico Harton Enano' dans cette introduction. Elle a été introduite du Honduras vers la zone caféière de Colombie après un séjour dans la zone de production bananière. Il apparaît donc hautement probable que l'introduction de cette variété ait été une des causes de la présence de *R. similis* dans la zone caféière. Toutefois la liaison entre elle et la présence de ce parasite n'est pas toujours évidente selon les données de l'enquête. De plus il est quasiment certain que *R. similis* ait pu être introduit dans d'autres types de matériel végétal, et notamment les bananiers présents en assez grand nombre. Une enquête sur l'historique de l'introduction serait intéressante à entreprendre, mais elle serait sans doute difficile (impossible ?) à mener et sans grandes retombées pratiques quant aux mesures à prendre.

2.2.2) NIVEAUX DE POPULATIONS

Le fait le plus évident est le faible niveau de population observé en moyenne. Les *Helicotylenchus* s'il sont, comme en Côte d'Ivoire, les plus fréquents, n'atteignent que le 1/10 à 1/20 des quantités observées dans ce dernier pays. On a vu que les estimations faites étaient fiables et de plus, ceci est tout-à-fait en accord avec les dommages observés au champ. En Côte d'Ivoire leur abondance entraîne souvent une nécrose généralisée de la partie superficielle du parenchyme cortical (*Helicotylenchus* est, sur Musacées, un endoparasite superficiel). Dans la zone prospectée, les racines sont la plupart du temps blanches avec parfois quelques tirets, au pire quelques taches faiblement étendues. Signalons toutefois un cas (isolé ?) qui pouvait rappeler les dommages de Côte d'Ivoire (nécrose généralisée de la surface racinaire), il s'agit d'une parcelle dans la zone de Restrepo (Valle del Cauca, hors zone de l'enquête) observée lors de notre déplacement vers Calí, avec des plants très mal développés sur un sol très fortement argileux.

Il en est de même, généralement, des populations de *Pratylenchus* et de *Radopholus*. Ces niveaux faibles pourraient en partie s'expliquer par l'altitude (la température) guère favorable au développement de ces espèces tropicales. Toutefois les populations observées sur quelques sites (partie orientale du Caldas sur les pentes de la vallée du Magdalena ; zones de Chinchiná et de la Palestina ;

quelques sites du Quindío - Pijao, Montenegro -) atteignent des valeurs élevées, comparables aux niveaux d'infestations connus en Côte d'Ivoire.

Les *Meloidogyne* sont, dans l'absolu, observés à des niveaux de populations équivalents à ceux des *Helicotylenchus*. Toutefois cette comparaison brute n'a pas grande signification, du fait de la biologie différente de ces deux genres. Le type d'extraction utilisé s'il est particulièrement adapté à l'évaluation des populations d'endoparasites migrants (y compris les *Helicotylenchus*) sous-évalue notablement les sédentaires. Les femelles sont généralement détruites au mixage ou passent mal les tamis, et les populations de larves du sol sont ignorées. Il est plus intéressant de voir que les niveaux observés sont égaux ou supérieurs, en moyenne, à ceux rencontrés en Côte d'Ivoire. Plus significatif encore, les dommages dans ce dernier pays sont généralement très discrets sinon invisibles, alors qu'en Colombie les dommages sont beaucoup plus marqués: galles sur les racines secondaires ou tertiaires, simples nodosités accompagnées ou non de craquelures superficielles sur les racines primaires. Par ailleurs en coupant les racines longitudinalement, on peut observer des groupes de femelles parfois nombreuses, ou des nécroses internes révélant d'anciens sites de parasitisme. Ces nécroses sont de deux types très différents:

> de petite taille et parfaitement délimitée au site de la femelle,

> beaucoup plus étendue jusqu'à la surface racinaire et parfois liée aux craquelures visibles à l'extérieur.

Dans le premier cas, on a l'impression d'une réaction d'hyper-sensibilité ayant empêché le développement de la femelle (a priori pas de développement de la masse d'oeuf et, en tout cas, pas de sortie vers le sol). D'après le Dr Arango ces symptômes pourraient être liés à *M. exigua*, parasite important du café mais qui ne pourrait se développer normalement dans les racines primaires de plantain.

Dans le second cas, le cycle de développement s'est déroulé apparemment normalement et les oeufs ont pu être émis dans le sol pour l'éclosion des larves. Ces symptômes seraient, toujours d'après le Dr Arango, plus typiques de *M. incognita* et *M. javanica*, parasites reconnus des musacées - et du café - (les deux espèces pourraient-elles être différenciées par la présence ou l'absence de craquelures externes ?).

2.3) TRAITEMENTS DES DONNEES DE L'ENQUETE

2.3.1) REMARQUES GENERALES

L'analyse des données de ce type d'enquête générale pose un certain nombre de problèmes, notamment pour les ravageurs, et plus particulièrement les nématodes. Les tendances cachées dans les données issues des 135 sites visités ne sont pas évidentes à faire ressortir. Nous nous sommes attachés au cours de cette mission à

montrer l'importance de l'examen visuel préalable des relations entre variables de l'environnement et ravageurs (visualisation des nuages de points). Cet examen est indispensable pour estimer la valeur des relations (dispersion des points) et leur forme (linéaire ou non), et d'en déduire d'éventuelles transformations, avant de se lancer dans les analyses statistiques aveugles.

Par ailleurs on a essayé de faire passer le message de l'intérêt des courbes enveloppes supérieures, susceptibles de révéler l'effet limitant des variables prises une par une. Ces effets individuels ne peuvent en effet pas être mis en évidence facilement (sauf cas exceptionnel d'un facteur vraiment dominant) par les outils classiques du type régression du fait des liaisons parfois très fortes (non-indépendance) ou des interactions des variables considérées. Nous avons toutefois insisté sur le *caractère hétérodoxe de ce type d'approche, qu'il convient d'aborder avec beaucoup de sens critique.*

Il est clair que ce travail d'analyse ne peut être réalisé qu'en étroite association avec le service de biométrie. Nous n'avons malheureusement pas pu trouver le temps de discuter en profondeur avec M Chavez, responsable de ce service.

Les quelques approches classiques préliminaires, ACP et régressions, réalisées n'ont pas donné de résultats très intéressants, aucune variable ne paraissant se détacher vraiment pour expliquer la variabilité des populations, mis à part (et encore pas d'une façon très nette) l'altitude pour *Pratylenchus*. Cela était plus ou moins prévisible du fait de l'allure des nuages de points généralement très dispersés. De plus nous n'avons abordé que les variables quantitatives. Des approches du type segmentation (variables qualitatives) pourraient apporter des éclaircissements nouveaux. Encore une fois tout cela doit être conduit avec le service biométrie.

2.3.2) VARIABLES EXPLICATIVES

2.3.2.1) CLIMAT

Les variables climatiques ne sont pas connues en détail pour chaque site. Toutefois il existe une relation directe entre l'altitude et la température, des formules de transformations ont été établies par le service de bioclimatologie, en fonction des régions. Pour la pluviométrie on sera contraint d'utiliser les variables régionales en admettant qu'il n'y a pas trop de microvariations.

Une première approche avec les moyennes annuelles a donné des résultats relativement satisfaisants. Toutefois on n'a aucune idée des variations saisonnières des populations, et l'enquête ne donne qu'un instantané du problème, avec, de plus, un certain étalement dans le temps entre le début et la fin de l'enquête. Les fluctuations de populations sont dépendantes des facteurs climatiques immédiats. Il faudrait donc retrouver ou estimer (à partir des données météo régionales) les conditions climatiques ayant régné au cours des trois mois qui ont précédé le prélèvement sur le site.

2.3.2.2) SOL

L'étude des relations avec la texture du sol serait intéressante car il s'agit d'une composante importante, notamment pour la mobilité des nématodes. Or ce paramètre n'a pas été pris en compte d'une façon suffisamment précise (estimation "al tacto"). On a essayé de convertir les caractéristiques de sol estimées ainsi en données pseudo-quantitatives (% moyens d'argile, de sable et de limon) mais les résultats ont été décevants. Il faudrait voir si des données plus précises ne peuvent être obtenues

La matière organique semble aussi devoir intervenir comme facteur explicatif, mais plus en tant qu'amendement qu'en tant que composante du sol (hypothèses : effet favorable sur la croissance des plants, effet défavorable sur les nématodes - mobilité, antagonistes... -).

2.3.2.3) FACTEURS CULTURAUX

Le type d'association est important à considérer pour expliquer les variations de la composition spécifique des peuplements. Ceci ne peut se faire qu'à l'échelle du genre pour le moment faute d'identification spécifique (celà n'était pas réaliste de l'entreprendre dans le cadre de cette enquête, mais il faudrait prévoir une enquête faunistique plus élaborée). Par ailleurs il est dommage que seules aient été considérées les racines de bananiers, car le peuplement parasitaire des plantes associées dominantes (au moins le café !) est particulièrement important à prendre en compte.

Par ailleurs il est probable, en tout cas possible, que la variété influe sur la composition et les niveaux du peuplement parasitaire. Or il semble que, au moins sur certains sites, il ait été fait des échantillons composites, faute d'un nombre de plants suffisants. Là encore il y a une donnée qui reste à préciser.

2.3.3) TRANSFORMATION DES DONNEES NEMATODES

Il est généralement d'usage d'utiliser la transformation logarithmique (précisément $\log(N + k)$ pour intégrer les valeurs nulles). A cela plusieurs raisons:

> L'accroissement d'une population vivante est en première approximation et jusqu'à une certaine limite (liée au milieu lui-même) du type exponentiel,

> Les dommages provoqués aux cultures par les nématodes sont généralement proportionnels au logarithme du niveau de population,

> La répartition fortement aggrégative de ces parasites entraîne une proportionalité entre la moyenne estimée des populations et l'écart-type de cette estimation; la transformation logarithmique permet de stabiliser les variances, et de pseudo-normaliser la distribution, permettant ainsi l'utilisation convenable des outils statistiques d'analyse.

Cette transformation présente toutefois un inconvénient. Pour les populations les plus faibles (disons inférieures à quelques milliers pour 100 g de racines), les valeurs log donnent aux différences de populations une importance démesurée par rapport à la précision de l'estimation. A ce niveau en effet il est difficile de dire qu'une estimation de 1000 nématodes est significativement supérieure à une estimation de 100. Or la transformation prédit un effet ou une relation avec les variables explicatives équivalant à un passage de 10.000 à 100.000. Ce problème est gênant ici du fait du niveau plutôt faible des populations en général.

On pourrait recourir à des transformations du type logistique (ou sigmoïde) satisfaisantes pour l'esprit, mais elles sont très difficiles à appliquer de par le nombre de paramètres (plus ou moins arbitraires et difficiles à expliquer biologiquement) entrant dans la formule. Une solution plus simple consiste à jouer arbitrairement sur le paramètre k de la transformation logarithmique, paramètre qui en augmentant estompe l'effet log sur les populations les plus basses (à titre d'exemple, on avait pris pour usage d'utiliser $k = 1000$ en Côte d'Ivoire).

2.4) ORIENTATIONS

Le niveau de parasitisme par les nématodes n'apparaît donc pas très élevé en moyenne tant par les populations dénombrées que par les dommages observés au champ. Toutefois cette enquête ne nous donne qu'une vision instantanée d'où tout aspect dynamique est exclu (saisonnier et évolution à long terme). De plus le niveau atteint par certains parasites réputés pathogènes sur certains sites incite à, au moins, poursuivre les études pour évaluer au mieux l'importance du problème. Enfin, la présence confirmée de *R. similis*, demande à ce que des mesures de protections soient prises pour éviter sa propagation.

2.4.1) *HELICOTYLENCHUS* (problème non prioritaire)

Ce genre d'endoparasites superficiels n'apparaît pas à un niveau très élevé et les dommages observés au champ n'ont vraiment rien d'alarmant, par rapport à ce que l'on connaît en Afrique. Rien ne justifie donc d'entreprendre des études particulières à son sujet. On se contentera d'exercer une surveillance de routine pour voir si le problème évolue dans le temps, notamment avec l'extension des cultures pures. Il serait intéressant de préciser le complexe spécifique en fonction des caractéristiques du milieu.

2.4.2) *MELOIDOGYNE* (priorité n° 2)

Le problème apparaît plus préoccupant, sans être dramatique. Le niveau d'infestation semble plus élevé qu'en Afrique. Le complexe spécifique en fonction des sites est à préciser et le pouvoir pathogène de chaque espèce à évaluer.

Ce genre peut être particulièrement redoutable pour les jeunes plantules provenant de propagation in vitro. Ceci est à considérer si cette technique venait à se développer.

2.4.3) PRATYLENCHUS (priorité n° 1 bis)

Il reste à préciser s'il est présent monospécifiquement et s'il s'agit bien de *P. coffeae* qui possède un pouvoir pathogène très élevé sur plantains. En Amérique Centrale il est apparu plus redoutable que *R. similis*. Il a été détecté sur certains sites en populations élevées, alors qu'il semble complètement absent dans près de la moitié des cas. Il faudrait préciser:

- > sa distribution géographique exacte,
- > les facteurs environnementaux les plus explicatifs de sa présence et de son développement (la température est le candidat n° 1),
- > les relations plantain ↔ *P. coffeae* ↔ café,
- > son impact sur la culture.

2.4.4) RADOPHOLUS SIMILIS (priorité n° 1)

Cette espèce est la seule dont on puisse affirmer avec certitude qu'elle n'est pas indigène mais a été introduite accidentellement par du matériel végétal infesté. Cette introduction n'est vraisemblablement pas unique. Elle représente un danger potentiel grave pour la culture.

Actions à mener :

A) Préciser sa répartition spatiale très précise, en rayonnant à partir des sites où il a été détecté:

- > confirmer sa présence sur le site même, et évaluer son importance,
- > examiner finca par finca son extension,

B) Suivre son évolution dans le temps. Pour le moment on ne dispose pas assez de sites pour pouvoir établir des relations avec les variables de l'environnement. On peut penser que les conditions de température (au moins à partir d'une certaine altitude) ne seront pas favorables à son développement, et qu'il pourrait simplement se maintenir à un niveau tolérable. Toutefois il a été détecté à des niveaux élevés à certains endroits (notamment dans la zone de Chinchiná - La Palestina).

S'il se confirme que cette espèce est dommageable pour la culture du plantain dans cette zone, il conviendrait d'éviter sa dissémination puis d'entreprendre son éradication:

> **Eviter toute introduction de matériel végétal étranger à la zone.**

> **Empêcher la sortie de matériel végétal des fincas contaminées.**

> **Détruire sur place les plants infestés**, les remplacer progressivement par du matériel sain sur du sol assaini (n'ayant pas porté de bananiers depuis au moins deux ans). Normalement *R. similis* ne doit pas se maintenir sur café, mais il n'est pas exclu que certaines adventices ou autres cultures associées (tout particulièrement le maïs) puissent en maintenir voire en développer les populations. Ceci est un point à suivre tout particulièrement.

2.4.5) ETUDES DES RELATIONS PLANTE-NEMATODES

L'appréciation de l'impact sur la culture n'est pas évident dans ce contexte cultural d'association et de complexe parasitaire. Une première indication nous sera donnée par les relations mises en évidence entre les niveaux d'infestation et l'état du système racinaire et des plants sur les sites visités lors de l'enquête. Ceci devrait être complété par l'observation de sites supplémentaires dans les zones les plus infestées. Il faudra également de compléter ces études par l'**examen des pathogènes fongiques associés**.

Si des relations apparaissent entre le niveau de population de certaines espèces de nématodes (et/ou de champignons) et une mauvaise croissance, alors il faudra essayer de préciser l'importance de l'impact pour estimer si des mesures de lutte s'imposent économiquement. Cette évaluation de l'impact n'est pas évidente dans le contexte cultural présent. En culture pure cela serait sans doute plus facile en comparant parcelles saines (traitements ?, assainissement du sol par rotations culturales ?) et infestées.

Des études en microparcelles sur station seraient également possibles mais on sortirait alors du contexte particulier de chaque site, et les extrapolations pourraient être dangereuses. Quant aux études de laboratoire (vitroplants - élevages de nématodes, voir annexe 2) elle seraient d'un grand intérêt théorique pour mesurer la pathogénie intrinsèque des différentes espèces mais il serait difficile de replacer cela dans le contexte de chaque site.

Dans un premier temps l'évaluation au champ par l'examen du système racinaire et de l'état végétatif des plants devrait suffire pour décider si des mesures de lutte s'imposent ou non dans tel ou tel site.

2.4.6) MESURES DE LUTTE

La définition de mesures de lutte n'est pas évidente si l'on exclut *a priori* toute possibilité d'intervention chimique. Il serait réaliste de concevoir des apports raisonnés et mesurés de nématicides (à la plantation notamment pour aider à l'établissement du système racinaire dans les sites où la pression parasitaire est la plus forte).

En première approximation on considèrera que la lutte ne s'impose que contre *Pratylenchus* et *Radopholus similis* là où les populations sont les plus fortes (seuil de tolérance non déterminé dans les conditions locales). ***Schématiquement, on cherchera à éliminer la seconde espèce, et à rendre tolérable pour la culture la présence de la première.***

Pour *R. similis*, non indigène et non encore bien implantée, on a vu qu'une éradication est peut-être envisageable à terme, à ***condition de prendre des mesures de réglementation drastiques sur la circulation du matériel végétal***, et à condition de prendre garde au maintien possible dans certaines adventices. Cette éradication risque toutefois d'être difficile et longue à obtenir du fait de la grande dispersion géographique des foyers inventoriés.

Pour *Pratylenchus* le problème est plus compliqué du fait de la persistance possible par le café associé. La plantation de matériel sain ne règlera pas le problème l'inoculum du sol étant maintenu en permanence. En culture pure une solution pourrait être le recours à des rotations culturales avec des plantes non-hôtes (à déterminer), mais il n'est pas sûr que ce soit économiquement et/ou sociologiquement acceptable.

Quel que soit le système cultural, toutes les mesures visant à améliorer la "fertilité" du sol, et notamment l'apport massif de matière organique, peut contribuer à diminuer l'impact des nématodes.

A plus long terme la solution viendra de l'utilisation de variétés plus tolérantes (voire résistantes).

2.4.7) UTILISATION DE MATERIEL VEGETAL DE PLANTATION SAIN

Le recours à du matériel de plantation sain est une condition nécessaire (mais pas suffisante s'il y a maintien inoculum du sol) pour lutter efficacement contre les nématodes. C'est de plus le seul moyen d'éviter la propagation de nématodes d'une zone infestée à une zone saine (on pense surtout à *R. similis*).

Il existe de nombreuses techniques pour assainir le matériel de plantation, qui sont abondamment décrites dans la littérature.

Le parage, solution la plus simple techniquement, n'est pas suffisant, les endoparasites migrants étant surtout présents (et parfois abondamment) dans les tissus apparemment sains. Généralement le parage est accompagné soit d'un trempage à l'eau chaude, soit d'un pralinage dans une boue nématicide. Ces deux techniques sont très efficaces, mais ne peuvent jamais garantir un assainissement absolu; de plus elles sont délicates d'application:

> Le trempage à l'eau chaude est techniquement difficile (la température de l'eau et le temps de trempage doivent être très précis est différents selon le type de matériel végétal), et peut entraîner des effets négatifs sur le plant lui-même.

> Le pralinage est plus simple et plus souple d'application mais il nécessite de manipuler des produits nématicides dangereux.

La solution la plus sûre consiste à utiliser des plants issus de micropropagation *in vitro*, à condition de bien maîtriser la phase de grossissement en pépinière (contrôle rigoureux de l'état sanitaire du substrat). Les inconvénients majeurs restent encore:

> le coût de production (ceci peut s'arranger dans le futur);

> la grande sensibilité des plantules aux nématodes présents dans le sol (et notamment aux *Meloidogyne*), ce qui impliquerait un traitement nématicide préventif à la plantation, pour protéger les premiers mois.

3) ENTOMOLOGIE

Cette mission a surtout été axée sur la nématologie, toutefois nous avons pu discuter à CENICAFE des problèmes entomologiques, et nous avons eu à l'ICA de Palmira une longue conversation avec le Dr Jaime Palido, en l'absence du Dr Fulvia Garcia. Nous donnons ici une synthèse de ces entretiens.

3.1) EXPOSE DES PROBLEMES

Les problèmes principaux sont posés par les Coléoptères Curculionidae *Cosmopolites sordidus* et *Metamasius* spp, ainsi que par le Lépidoptère Castniidae *Castniomera humboldti*, tous ravageurs à l'état larvaire du bulbe ou du pseudo-tronc.

Généralement c'est la première espèce qui est considérée comme la plus dommageable pour la culture. Pour *Castniomera* et *Metamasius* spp il est généralement admis qu'ils constituent des problèmes sur les plantations les moins bien entretenues. Toutefois quelques problèmes existent dans certaines zones.

L'essentiel des études qui sont ou ont été menées tant à CENICAFE qu'à l'ICA concernent surtout *C. sordidus*. Il a été confirmé par l'enquête diagnostic réalisée, que les problèmes sont surtout importants, mais non généralisés, aux altitudes les plus basses et diminuent avec l'altitude, et sont quasiment absents au dessus de 1500 mètres. Ce phénomène attribué à la température, avait été observé également au Cameroun par M Lescot.

3.2) METHODES DE LUTTE

Différentes approches plus ou moins classiques (utilisation d'insecticides en trempage du matériel végétal par exemple) ont été tentées pour combattre *C. sordidus*. Une méthode est apparue très intéressante, il s'agit de l'utilisation de pièges, traités ou non.

Ces pièges consistent en rondelles de pseudo-tronc, réalisées après la récolte et le recépage des anciens pieds porteurs. Cette rondelle d'une épaisseur de 5 à 10 cm, très attractive, est posée sur le pseudo-tronc recépé. Les adultes piégés sont récupérés manuellement tous les huit jours et sont détruits (noyés dans du gazole par exemple). Lorsque le nombre d'adultes moyen dépasse cinq par piège, les pièges sont traités avec un insecticide, généralement le carbofuran (Furadan) mais des produits tels que le carbaryl (Sevin) ou le mephosfolan (Cytrolane) ont également été testés avec succès. Les pièges doivent être renouvelés au moins tous les quinze jours.

On peut également envisager l'utilisation d'agents biologiques dans ces pièges tels que des prédateurs (Coléoptères Histeridae, ou fourmis du genre *Camponotus*) ou des entomopathogènes (*Beauveria bassiana* ou nématodes).

Cette méthode de lutte s'en prend directement à la population d'adultes. Elle agit donc par élimination de l'inoculum. Elle est parfois mal acceptée par les petits planteurs car les résultats ne sont pas immédiats. Il y a tout un travail de persuasion à réaliser, mais surtout il faut insister sur la nécessité d'intervention généralisée à l'échelle d'une zone géographique. En effet si la lutte n'est effectuée que ponctuellement sur une finca, on peut craindre une réinfestation rapide par l'inoculum résiduel des fincas voisines non traitées. Et cela même s'il n'y a pas échange de matériel végétal, car les capacités migratoires de cette espèce, même si elle sont faibles, ne doivent pas être sous-estimées à cette échelle.

4) CONCLUSIONS

Cette mission s'est déroulée dans de bonnes conditions qui ont permis une bonne appréhension du contexte local. On peut considérer que les buts fixés ont été atteints :

> Nous avons pu constater que les techniques étaient appliquées correctement et les résultats obtenus, fiables. La nématologie est une science suffisamment "rustique" pour permettre cela, même avec un équipement qui n'est pas optimal, dès lors que les moyens humains sont qualitativement à la hauteur.

> Nous avons longuement insisté sur la partie analytique afin que les résultats de l'enquête puissent être exploités de la manière la plus efficiente possible.

> L'examen préliminaire des données a permis de définir les orientations futures qui nous sont apparues les plus appropriées (cf § 2.4, ORIENTATIONS).

Les éléments essentiels que l'on peut tirer de ces premiers résultats sont les suivants:

> La composition faunistique tout à fait "classique", au moins au niveau générique,

> Des niveaux d'infestations relativement faibles en moyenne, en comparaison avec l'Afrique de l'Ouest, avec toutefois:

>> le genre *Meloidogyne* trouvé en général à des niveaux préoccupants, avec un impact visible sur le système racinaire,

>> des niveaux alarmants de *Pratylenchidae* sur quelques sites.

En ce qui concerne les premières actions à mener sur le terrain, nous ne pouvons qu'insister sur les mesures à prendre le plus rapidement possible à l'encontre du danger présenté par *R. similis*.

Il nous paraît important que des moyens puissent être dégagés pour pouvoir réaliser les études proposées. A Palmira⁽¹⁾ comme à Chinchiná, la nématologie ne semble pas bénéficier, à l'heure actuelle, des moyens financiers et techniques dont disposent d'autres disciplines analogues (phytopathologie et entomologie notamment). La construction du nouveau laboratoire de Chinchiná devrait en partie pallier cette lacune à condition que la mise à disposition de moyens humains soit suffisante.

Par l'intermédiaire du service de nématologie de l'IRFA, le CIRAD pourrait jouer un rôle important pour aider au développement de cette discipline, tant par des conseils techniques suivis, que par une aide à la formation du personnel scientifique et technique.

Montpellier, novembre 1990.

(1) Nous n'avons pu avoir qu'une vision superficielle de ce laboratoire du fait de l'absence de son responsable. Nous espérons avoir l'occasion de le rencontrer lors d'une prochaine visite afin d'avoir une meilleure vision de ce qui se réalise à l'ICA en matière de nématologie.

A N N E X E 1

METHODES POUR UN MELANGE HOMOGENE DES TRONCONS DE RACINES

En général on va prélever 50 grammes à partir d'un échantillon qui peut parfois aller jusqu'à plus d'un kilogramme. Du fait du type de répartition très fortement aggrégatif des nématodes dans les racines (foyers d'infestations), il y aura des tronçons sans nématodes et des tronçons très fortement infestés. Pour obtenir une fraction aussi représentative que possible de la moyenne d'infestation réelle de l'échantillon cette opération de mélange des tronçons de racines, est primordiale.

Dans ce qui suit on nommera "échantillon", la totalité des racines prélevées découpées en tronçons (1 cm maxi); et partie aliquote, la partie prélevée pour l'extraction (en général 50 grammes) à partir de l'échantillon.

Méthodes des quatre quarts

Cette méthode est inspirée de celle utilisée dans certains laboratoire de pédologie pour mélanger les échantillons de sol. Il faut disposer d'un récipient de type cuvette (vide) et d'une planche (celle sur laquelle est effectuée la découpe des tronçons de racines par exemple).

- 1) L'échantillon est mis dans la cuvette.
- 2) Après un mélange grossier à la main de quelques dizaines de secondes, l'échantillon est versé sur la planche.
- 3) On étale cet échantillon sur la surface de la planche et avec le coté non tranchant du couteau on le partage en quatre quartiers.
- 4) Chacun des quartiers est remis l'un après l'autre dans la cuvette.
- 5) On reprend l'opération à l'étape 1)

On recommence cinq fois avant de prélever la partie aliquote.

Mélange dans l'eau

L'échantillon est mis dans une cuvette, remplie d'eau à moitié. Il est ensuite brassé à la main dans l'eau pendant 2-3 minutes. Le mouvement de l'eau assure un bon mélange des tronçons de racine.

Cette méthode est encore plus simple que la précédente, mais elle présente l'inconvénient de mouiller les racines qui devront être séchées dans un papier absorbant (type Sopalin) avant d'effectuer le prélèvement de la partie aliquote (les racines doivent être aussi sèches que possible pour avoir une pesée correcte de la partie aliquote).

A N N E X E 2

CULTURE DE NEMATODES PRATYLENCHIDAE SUR CAROTTES IN VITRO

Les opérations se déroulant en conditions stériles sous hotte à flux laminaire sont marquées par le signe (*).

PREPARATION DES FLACONS

> Préparation et autoclavage d'une solution d'eau gélosée (Agar 1 %).

> (*) Ajouter 500 ppm de sulfate de dihydrostreptomycine lorsque la solution est redescendue à une température d'environ 50° C (juste avant solidification).

> (*) Verser immédiatement 10 ml (couche de 1 cm) de cette solution dans des flacons préalablement stérilisés (autoclavage).

PREPARATION DES CAROTTES

La technique suivante est utilisée à Montpellier :

> Prendre des carottes de bonne taille, fraîches, sans lésions. Les laver abondamment à l'eau.

> (*) Les tremper 10 secondes dans de l'alcool à 95°, puis les flamber.

> (*) Les éplucher en flambant le couteau à chaque fois, puis les découper en rondelles d'environ 1 cm d'épaisseur.

> (*) Déposer 4 ou 5 rondelles dans chaque flacon, et les conserver à l'obscurité à 28-30° C pendant une semaine afin de vérifier qu'il n'y a aucune contamination avant d'inoculer les nématodes.

Cette technique ne permet pas une désinfection en profondeur des rondelles de carottes et des infestations endogènes (bactériennes principalement) peuvent entraîner un vieillissement prématuré de la culture.

M. Richard PLOWRIGHT désinfecte séparément chaque disque de carotte de la manière suivante :

> trempage dans l'alcool,

> flambage,

> trempage dans une solution de NaOCl (eau de Javel) à 1 % 5 mn et rinçage abondant à l'eau stérile.

PREPARATION ET INOCULATION DES NEMATODES

Les nématodes sont récupérés des racines à travers un 'kleenex' par macération dans l'eau pendant 24 à 48 h, avec oxygénation (bullage) permanent de l'eau (cette oxygénation est essentielle pour obtenir des nématodes très actifs). Faute d'installation de distribution d'air ou d'oxygène on peut recourir fort simplement à une petite pompe d'aquarium.

Après récupération de l'eau de macération et concentration de la suspension après décantation, on vérifie la présence et l'activité des nématodes. En cas de peuplement polyspécifique (ce qui arrive généralement) "pêcher" individuellement les nématodes de l'espèce voulue. Chaque flacon doit être inoculé avec un strict minimum de 10 et jusqu'à 100 nématodes. Avec une faible quantité on pourra inoculer plus de flacons, mais le développement de la population sera plus rapide (et plus sûr) avec un inoculum plus élevé. En général 30 à 50 individus constituent une quantité optimale.

Au fur et à mesure, mettre les nématodes "pêchés" dans un microtube conique (contenance utile 1 ml) de centrifugeuse, contenant de l'eau stérile (autoclavée). Les opérations suivantes visent à la désinfection des nématodes, et ne pouvant matériellement se dérouler sous la hotte, on aura soin de manipuler à proximité d'un bec Bunsen allumé :

> 1) Centrifugation 2 mn à 2 500 T/mn. Enlever précautionneusement le surnageant (pipette stérile)

> 2) Rajouter une solution d'HgCl₂ à 0,01 % et remettre les nématodes en suspension (les microtubes sont munis d'un couvercle ce qui permet de les agiter sans risque). Centrifuger (toujours 2 mn à 2 500 T/mn)

> 3) Enlever le surnageant, mettre une solution de sulfate de dihydrostreptomycine à 0,2 %, agiter, centrifuger ;

> 5) Enlever le surnageant puis rincer (2 fois) à l'eau stérile comme précédemment (opération 3)

(*) Les nématodes en suspension concentrée à la suite de la sixième centrifugation sont inoculés à la pipette ou versés directement sur les carottes dans les flacons.

Les flacons sont maintenus ensuite à l'obscurité à température optimale, soit 28 à 30° C, les premiers individus visibles sur les parois du flacon apparaîtront 1 mois 1/2 à 2 mois plus tard. Les élevages se maintiennent ensuite par simple repiquage, mais des infestations internes des carottes finissent par se développer et la désinfection des nématodes est nécessaire avant le repiquage.

Office d'Édition de la Recherche Scientifique
et Coopération Internationale



Parc Modulopols H 1 Zone Euro Méditerranée
Montpellier 67.32.20.05